

ОТРИМАННЯ КОЛАГЕНУ ІЗ НЕДУБЛЕНИХ ВІДХОДІВ
ШКІРЯНОГО ВИРОБНИЦТВА

Ніколаєва О.А., Ребрикова П.А., аспірант, кафедра біотехнології, шкіри та хутра,

Мокроусова О.Р., д.т.н., проф., завідувач кафедри біотехнології, шкіри та хутра

Київський національний університет технологій та дизайну

olenamokrousova@gmail.com

Під час виробництва шкіри утворюється велика кількість відходів, які можуть бути дешевим джерелом колагену [1-3]. Колаген – фібрилярний білок, який є основою сполучної тканини. Наразі відомо близько 27 різних типів колагену. У ссавців 90-95% припадає на колаген І типу, молекула якого складається із трьох лівозакручених ланцюгів, які утворюють правозакручену спіраль [4-6]. Для ланцюгів характерна послідовність амінокислот, яка описується формулою G-X-Y (де G – гліцин, X – найчастіше пролін чи гідроксипролін, Y – інша амінокислота).

Дуже широкому використанню колагену, отриманого із різних сировинних джерел, у медицині, біотехнології, косметичній та харчовій промисловості сприяє те, що колаген має низьку імуногенність. Це викликано тим, що колагенові білки мають унікальний, приблизно однаковий амінокислотний склад. Частіше імунну відповідь викликають домішки неколагенових білків. Широкий попит на цей біотехнологічний продукт приводить до постійного пошуку різноманітних дій з сировиною для отримання колагену з метою оптимізації його екстрагування та підвищення економічності процесу.

Метою роботи було аналіз ефективності отримання колагену із відходів шкіряного виробництва. Наукова ідея полягала в розробці ефективного способу, що забезпечило б більш швидке і дешеве отримання колагену із

відходів промисловості, оптимальний час екстракції, відсутність домішок та високу кількість продукту [7].

Для досліджень в якості відходів використовували голину, отриману зі шкур великої рогатої худоби після процесу зоління-зневолошування. Для вилучення колагену було взято 10 г голини. Відібрані відходи було подрібнено на елементи розміром $\leq 0,5 \text{ см}^2$. Спочатку було відділено неколагенові білки, після чого проводилась екстракція колагену. Колаген екстрагували розчином 0,5 М оцтової кислоти у присутності 5 мМ EDTA. Чистоту екстрагованого колагену перевіряли методом електрофорезу. Також був проведений аналіз динаміки екстракції колагену. Для всіх модифікацій проводили повторну екстракцію колагену з супернатанту, отриману після першої стадії екстракції. Ця дія проводилась з метою з'ясування потенційної необхідності повторного вилучення колагену з сировини для оцінки економічної доцільності проведення такого способу. Основним критерієм для оцінки ефективності методу отримання колагену з колагенових відходів шкіряної промисловості було кількість отриманого колагену на одиницю маси сировинного матеріалу та чистота. Чистоту продукту перевіряли по результатам електрофорезу в поліакриламідному гелі, а кількість отриманого білка визначали за модифікованим методом Лоурі [8].

Результати екстракції колагену продемонстрували, що більш ефективним є метод з використанням для осадження колагену 20 % NaCl на першій стадії екстракції, а також проведення екстрагування при температурі 4 °C, що сприяє більшому виходу колагену з одиниці маси голини.

Кількісний аналіз екстрагованого колагену показав доцільність проведення багаторазової екстракції. Оскільки на першій стадії не вдається повністю вилучити весь колаген і до 50 % колагену залишається в супернатанті.

Якісний аналіз колагену, отриманого на першому та другому етапах екстракції, був виконаний з використанням методу електрофорезу.

Результати свідчать про наявність $\alpha_1(I)$ – мономерні ланцюги, $\beta_{11}(I)$, $\beta_{12}(I)$ – димерні ланцюги, $\gamma(I)$ (різні комбінації)– тримерні ланцюги. Колаген, який

екстрагується протягом 24 годин виявився більш чистим. Показано, що отриманий після кожної наступної стадії екстракції супернатант може піддаватись подальшому багаторазовому гідролізу для отримання низькомолекулярних фрагментів ланцюгів.

В цілому, показано можливість отримання колагену із відходів шкіряного виробництва з виходом 6,15 %. Результати аналізу SDS-PAGE показали, що отриманий колаген є чистим і належить до типу I.

Список використаних джерел

1. F. Langmaier, K. Kolozmik, S. Sukop, M. Mladek, Products of enzymatic decomposition of chrome- tanned leather waste, J. Soc. Leather Technol. Chem. – 1999. – vol. 83. – P. 187-195.
2. V. John Sundar, A. Gnanamani, C. Muralidharan, N.K. Chandrababu, A.B. Mandal, Recovery and utilization of proteinous wastes of leather making, Rev. Environ. Sci. Biotechnol. – 2011. – vol. 10. – P. 151-163.
3. J. Kanagaraj, K.C. Velappan, N.K. Chandrababu, S. Sudulla, Solid wastes generation in the leather industry and its utilization for cleaner environment. J. Sci. Ind. Res/ – 2006. – vol. 65. – P. 541-548.
4. L. Olle, S. Sorolla, C. Casas, A. Bacardit, Developing of a dehydration process for bovine leather to obtain a new collagenous material. J. Clean. Prod. – 2013. – vol. 51. – P. 177-183.
5. M. Ashokkumar, N.T. Narayanan, A.L.M Reddy, B.K. Gupta, B. Chandrasekaran, S. Talapatra, P. Thanikaivelan, Transforming collagen wastes into doped nanocarbons for sustainable energy applications. Green Chem. – 2014. – vol. 14. – P. 1689-1695.
6. C.H. Lee, A. Singla, Y. Lee, Biomedical applications of collagen. Int. J. Pharm. – 2011. – vol. 221. – P. 1-22.
7. O. Savchuk. Extraction and Characterization of Collagen Obtained from Collagen-Containing Wastes of the Leather Industry / Savchuk O., Raksha N., Ostapchenko L., Mokrousova O., Andreyeva O. // Solid State Phenomena. – 2017. – Vol. 267. – P. 172-176.

8. O.H. Lowry, N.J. Rosebrough, A.L. Farr, R.J. Randall, Protein measurement with the Folin phenol reagent, J Biol Chem. 1951. – vol. 193. – P. 265-275.